

고지방식이로 유도한 비만이 마우스의 조직 아연 농도와 아연수송체 발현에 미치는 영향*

민별초롱 · 정자용[†]

경희대학교 생활과학대학 식품영양학과

Effects of high-fat diet induced obesity on tissue zinc concentrations and zinc transporter expressions in mice*

Min, Byulchorong · Chung, Jayong[†]

Department of Food & Nutrition, College of Human Ecology, Kyung Hee University, Seoul 02447, Korea

ABSTRACT

Purpose: Obesity is often associated with disturbances in the mineral metabolism. The purpose of this study was to investigate the effects of high-fat diet-induced obesity on tissue zinc concentrations and zinc transporter expressions in mice.

Methods: C57BL/6J male mice were fed either a control diet (10% energy from fat, control group) or a high-fat diet (45% energy from fat, obese group) for 15 weeks. The zinc concentrations in the serum, stool, and various tissues were measured by inductively coupled plasma (ICP)-atomic emission spectrophotometry or ICP-mass spectrophotometry. The levels of zinc transporter mRNAs in the liver, duodenum, and pancreas were measured by real-time RT-PCR. The levels of serum adipokines, such as leptin and IL-6, were determined. **Results:** The total body weight, adipose tissue weight, and hepatic TG and cholesterol concentrations were significantly higher in the obese group, as compared to the control group. The obese group had significantly higher levels of serum leptin and pro-inflammatory IL-6 concentrations, and had significantly lower levels of serum alkaline phosphatase activity. The zinc concentrations of the liver, kidney, duodenum, and pancreas were all significantly lower in the obese group than in the control group. On the other hand, the fecal zinc concentrations were significantly higher in the obese group than in the control group. The serum zinc concentrations were not significantly different between the two groups. The ZnT1 mRNA levels of the liver and the pancreas were significantly higher in the obese group, as compared to the control group. Hepatic Zip10 mRNA was also increased in the obese group. **Conclusion:** Our study findings suggest that obesity increases fecal zinc excretion and lowers the tissue zinc concentrations, which may be associated with alterations in the zinc transporter expressions.

KEY WORDS: obesity, zinc, zinc transporters, adipokine, mouse

서 론

아연은 필수 미량무기질로서 300여 가지 효소의 촉매 활성에 보조 인자로 작용하고, 2,000여 개 이상의 전사 인자의 활성을 조절하는 것으로 알려져 있다.¹ 이를 통해 면역 기능, 단백질 합성, 상처 치유, DNA 합성, 세포 분열 및 미각과 후각 감지 등의 여러 생리 활성을 가진다.^{2,4} 아연 결핍과 아연 대사의 불균형은 성장 지연, 성 성숙 지연, 눈

과 피부의 병변, 미각 이상 등을 일으키며, 특히 염증 반응 증가와 면역 기능 감소와도 밀접한 관련이 있다.⁵ 따라서, 체내 아연 항상성 유지는 매우 중요하다.

아연수송체 (zinc transporter)는 세포막을 관통하는 막 수송체 단백질로 아연의 세포 내·외 이동과 세포 내 소기관 간의 이동을 조절함으로써 체내 아연 대사 항상성에 중요하게 관여한다. 아연수송체는 ZnT (solute carrier family 30A, SLC 30A)군 (family)과 Zip (SLC 39A)군으로 구분

Received: October 29, 2018 / Revised: November 16, 2018 / Accepted: November 16, 2018

* This work was supported by grants from the National Research Foundation of Korea (NRF-2017R1A2B1009697).

[†] To whom correspondence should be addressed.

tel: +82-2-961-0977, e-mail: jchung@khu.ac.kr

© 2018 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

되는데, 현재까지 10개의 ZnT와 14개의 Zip이 알려져 있다.⁶⁻⁷ ZnT는 주로 세포 밖으로 아연을 방출하거나 세포소기관내로 아연을 이동시키며, 반대로 Zip은 세포 외액 또는 세포 내 소포에서 세포질로 아연을 유입시키는 기능을 통해 아연 항상성을 조절하는 역할을 한다.⁸ Zip과 ZnT의 분포는 조직마다 다른데, 특히 Zip4는 소장 세포의 미세음모막에서 식이 아연의 흡수에 작용하고,⁹ Zip5는 췌장의 외분비 세포인 선방세포 (acinar cell)로의 아연 이동에 있어 주된 수송체로 작용하여 아연의 체외 배출과 밀접한 관련이 있다.¹⁰ 이 밖에 Zip10은 혈액에서 간 조직 내로의 아연 이동에 작용하는 것으로 알려져 있다.¹¹ 한편, ZnT1은 비교적 대부분의 조직에 널리 분포하며 세포 내 아연의 세포 밖으로의 방출에 작용한다.⁸ IL-1 β 나 IL-6와 같은 염증성 사이토카인은 일부 ZnT와 Zip 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있다.¹²

비만은 체내 지방조직이 과도하게 축적된 상태로 지방세포에서 분비되는 염증 유발성 아디포카인의 분비 등으로 인해 인슐린에 대한 감수성, 염증반응 유도, 상피세포의 기능 이상 등 다양한 대사 변화를 동반한다. 현재까지 비만 상태에서 아연 대사의 변화에 대한 연구는 많지 않으나, 일부 임상연구에서 정상인에 비해 비만인에서 혈청 아연 또는 적혈구 아연 농도가 감소함이 보고된 바 있다.¹³⁻¹⁵ 또한, 비만 대상자에게 식이 조절을 통해 체중 감소를 유도하였을 때 체중 감소 후 혈장 아연 농도가 체중 조절 전에 비해 유의적으로 증가하는 것으로 나타난 바 있다.^{16,17} 하지만 비만 상태가 어떤 경로로 체내 아연 대사를 변화시키는 지에 대한 이해는 아직 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 고지방식이로 유도한 비만 마우스 모델을 이용하여, 비만이 체내 주요 조직의 아연 농도와 아연수송체 발현 수준에 미치는 영향에 대해 알아보려고 하였다.

연구방법

실험동물 사육 및 시료 채취

3주령 수컷 C57BL/6J mice (Daehanbiolink, Chung-buk, Korea)를 온도 22 \pm 2°C, 습도 50 \pm 60%, 12시간 간격의 인공 조명하의 조건에서 사육하였다. 금속오염을 방지하기 위하여 사육용 cage는 0.4% EDTA로 세척 후 정제수로 헹구어 사용하였다. Chow diet (Purina)로 3일 간 적응시킨 후, 한 군에 15마리씩 두 군으로 나누어 대조군 (control)은 전체 열량의 10%를 지방으로 공급하는 정상 식이 (D12450B; Research Diets Inc., NJ, USA)를, 비만군 (obese)은 전체 열량의 45%를 지방으로 공급하는 고지방식이 (D12451; Research Diets Inc.)를 15주간 공급하였다. 본 연구에 사용

Table 1. Compositions of diets used in this study

Group	Control	Obese
Ingredients (g)		
Casein	200	200
L-Cystine	3	3
Corn starch	315	72.8
Maltodextrin	35	100
Sucrose	350	172.8
Cellulose	50	50
Soybean oil	25	25
Lard	20	177.5
Mineral mix ¹⁾	10	10
Dicalcium phosphate	13	13
Calcium carbonate	5.5	5.5
Potassium citrate	16.5	16.5
Vitamin mix ²⁾	10	10
Choline bitartrate	2	2
FD&C dye	0.05	0.05
Total (g)	1,055.05	858.15
(kcal)	4,057	4,057
	(3.845 kcal/g diet)	(4.728 kcal/g diet)

1) 10g of mineral mix (Research Diets, S10026) provides 1.0 g sodium chloride, 0.5 g magnesium oxide, 0.33 g magnesium sulfur, 1.6 mg ammonium molybdenum, 2.0 mg chromium potassium, 6.0 mg copper, 37 mg iron, 59 mg manganese, 0.2 mg, iodine, 0.9 mg fluoride, 0.16 mg selenium, 38 mg zinc, and 3.99 g sucrose. 2) 10g of vitamin mix (Research Diets, V10001) provides 4,000 IU vitamin A, 1,000 IU vitamin D3, 50 IU vitamin E, 0.5 mg menadione, 0.2 mg biotin, 10 μ g vitamin B12, 2 mg folic acid, 30 mg niacin, 16 mg pantothenic acid, 7 mg vitamin B6, 6 mg vitamin B2, and 6 mg vitamin B1.

된 사료의 성분은 Table 1에 나타냈다. 본 연구는 경희대학교 동물윤리위원회로부터 동물실험 승인을 받았다 (KHUASP (SE)-14-036).

연구 종료 시점에서 12시간 공복 후, 졸레틸 (Virbac, Carros, France)로 마취한 뒤 심장 채혈로 안락사 후, 간, 신장, 췌장, 소장 및 지방조직 [피하지방 (subcutaneous fat), 부고환지방 (epididymal fat), 신장주변지방 (perirenal fat), 장간막지방 (mesenteric fat), 갈색지방조직 (brown adipose tissue)]을 적출하여 생리식염수로 혈액과 이물질을 제거한 뒤 실험 전까지 -80°C에서 보관하였다. 대변은 연구 종료 하루 전 대사 케이지를 이용하여 수집 후 실험 전까지 -80°C에서 보관하였다. 혈액은 심장으로 부터 채혈하였고, 혈청을 분리하기 위해 trace element-free tube를 이용하여 채혈 후 30분간 실온에서 방치하여 원심 분리한 후 실험 전까지 -80°C에서 보관하였다.

혈청과 간의 생화학적 지표 측정

혈청 triglycerides (TG)와 cholesterol의 농도 및 alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), alkaline

phosphatase (ALP)의 활성 수준은 상업용 키트 (Asan pharm, Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다.

간의 지질을 추출하기 위하여 0.1 g의 간 조직을 500 μ L의 PBS-10mM EDTA (pH 7.4)를 넣고 균질화 시키고 bicinchoninic acid (BCA) 법을 이용하여 단백질 정량 한 후, 2 mL의 isopropanol-hexane-water (40:10:1, v/v/v)를 넣고 30분 동안 상온에 정치하였다. 여기에 hexane-diethyl ether (1:1, v/v) 500 μ L를 넣고 10분 동안 상온에 정치시킨 후, 증류수 1 mL 넣고 20분 동안 상온에 정치하였다. 상층액을 새로운 시험관에 옮긴 후 37°C 건조기에서 유기용매를 날리고 isopropanol에 녹이고 중성지방 및 콜레스테롤 측정용 kit (Asan pharm)를 이용하여 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청의 IL-6와 leptin 수준은 ELISA kit (R&D systems, Minneapolis, MN, USA)와 Luminex 200 system (Luminex, Austin, TX, USA)을 이용하여 측정하였다.

조직과 혈청 아연 농도 분석

무기질 함량 분석을 위하여 간, 신장, 소장, 췌장 조직 및 대변은 동결건조 한 후, 65% 질산 (Millipore, Billerica, MA, USA) 을 넣고 가열하여 ash화 하였다. 실험에 사용된 모든 초자 기구는 금속 오염을 최소화 하기 위하여 10% 염산에 24시간 침지 시킨 후 0.4% EDTA에 24시간 침지 시키고 정제수로 세척하여 사용하였다. 전처리한 조직의 무기질 농도는 inductively coupled plasma atomic emission spectrophotometer (ICP-AES)를 이용하여 분석하

였고, 혈청 무기질 농도는 inductively coupled plasma mass spectrophotometer (ICP-MS)로 측정하였다.

Quantitative Real-time RT-PCR

조직 0.05 mg에 Trizol[®] Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 넣고, 제조사의 지침에 따라 total RNA를 추출 하였다. 추출된 total RNA는 nuclease free water를 넣어 녹인 후 Nanodrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc, Wilmington, DE, USA)를 이용하여 정량 하였다. 1 μ g의 total RNA를 PrimeScript[™] RT reagent kit (Takara, Otsu, Japan)를 이용하여 cDNA로 역전사 시킨 후, SYBR Premix Ex Taq (Takara) kit을 사용하여 real-time PCR을 수행하였다 (Mini Opticon, Biorad, Hercules, CA, USA). 본 연구에 사용된 primer 구성을 Table 2에 나타내었다.

통계 분석

실험 결과는 평균과 표준오차로 나타내었다. 그룹간의 평균의 차이는 Student t-test 를 실시하여 비교하였으며, $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다. 모든 통계분석은 Statistical Analysis System ver 9.4 (SAS Inc., Cary, NC, USA)을 사용하였다.

결 과

비만군과 대조군의 체중 변화, 지방조직 무게, 생화학적 지표 및 아디포카인 수준 비교

Table 2. The primer sequences used in this study

Genes	Forward	Reverse
ZnT1 (SLC30A1)	GGCCAACACCAGCAATCCAACG	AAGGCATTCACGCCACGATCACG
Zip4 (SLC39A4)	ACTTTGTGGACTTTGTGTCAGG	GAGTATGGAGCTCAGAGTCTTGG
Zip5 (SLC39A5)	AGGACCTAGTGAGCAATCAGAGG	TCTCCAAGATCCCITTTGTCC
Zip10 (SLC39A10)	TCATCGCCATCGTTTCATCA	CTCTGGTGAAGGGCTGTGAC
GAPDH	CAA CAG CAA CTC CCA CTC TTC	GGT CCA GGG TTT CIT ACT CCT T

Table 3. Body weight changes, fat weights, and the serum and hepatic biochemical parameters in control and obese mice

	Control	Obese
Body weight changes		
Initial body weight (g)	14.5 \pm 0.2 ¹⁾	15.3 \pm 0.2
Final body weight (g)	32.8 \pm 0.3	40.1 \pm 1.2 ²⁾
Body weight gain (g)	18.1 \pm 0.3	24.3 \pm 1.0
Adipose tissue weight		
Subcutaneous fat (g)	0.486 \pm 0.028	1.816 \pm 0.202 [*]
Visceral fat (g)	0.625 \pm 0.039	2.851 \pm 0.290 [*]
Epididymal fat (g)	0.340 \pm 0.020	1.499 \pm 0.145 [*]
Mesenteric fat (g)	0.161 \pm 0.012	0.592 \pm 0.099 [*]
Perirenal fat (g)	0.124 \pm 0.008	0.761 \pm 0.075 [*]
Brown adipose tissue (g)	0.063 \pm 0.002	0.108 \pm 0.015 [*]

1) Data are means \pm SEM (n = 15/group). 2) ^{*} indicates significant differences ($p < 0.05$) between two groups. 3) Alkaline phosphatase

Table 3. Body weight changes, fat weights, and the serum and hepatic biochemical parameters in control and obese mice (continued)

	Control	Obese
Biochemical parameters		
Serum TG (mg/dL)	46.9 ± 13.2	76.1 ± 19.7*
Serum cholesterol (mg/dL)	45.2 ± 2.7	61.9 ± 2.2*
Liver TG (mg/g tissue)	28.1 ± 3.4	86.1 ± 10.3*
Liver cholesterol (mg/g tissue)	3.0 ± 0.1	3.5 ± 0.2*
Serum AST (IU/mL)	89.8 ± 9.2	113.3 ± 13.9
Serum ALT (IU/mL)	19.2 ± 0.5	20.5 ± 0.4*
Serum ALP ³⁾ (K-A/mL)	11.7 ± 0.9	7.7 ± 0.5*
Adiopokine concentrations		
Serum leptin (pg/mL)	68.1 ± 15.4	4,575.3 ± 1,359.4*
Serum IL-6 (pg/mL)	6.8 ± 2.5	17.7 ± 3.8*

1) Data are means ± SEM (n = 15/group). 2) * indicates significant differences (p < 0.05) between two groups. 3) Alkaline phosphatase

초기 체중은 두 군간 유의적인 차이가 없었다. 15주간 고지방식을 공급하여 비만을 유도한 결과 비만군은 대조군에 비해 체중 증가량이 유의적으로 높았으며, 전체 체중과 부위별 지방 조직 (부고환지방, 장간막지방, 신장주위지방, 갈색지방, 피하지방)의 무게가 모두 유의적으로 높았다 (Table 3). 또한, 혈청과 간의 중성지방 농도와 콜레스테롤 농도 모두 비만군이 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 특히 간 중성지방 농도의 경우 비만군이 대조군에 비해 3배 이상 높았다. 이 밖에, 비만군의 경우 혈청 ALT 활성이 유의적으로 증가한 반면, 혈청 ALP 활성은 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다.

지방세포에서 분비되는 아디포카인의 혈청 농도를 비교한 결과, 비만군에서 대조군에 비해 혈청 렙틴 농도가 유의적으로 높은 것으로 나타났으며, 염증성 사이토카인인 IL-6의 농도 역시 비만군에서 유의적으로 증가하였다 (Table 3).

비만군과 대조군의 식이 섭취량 비교

비만군과 대조군의 실제 사료 섭취량과 이로부터 계산한 에너지 및 아연 섭취량을 Fig. 1에 나타내었다. 먼저, 사료 섭취량의 경우 비만군 3.485 g/일, 대조군 3.669 g/일로 두 군간에 유의적인 차이가 없었다 (Fig. 1A). 비만군에 공급된 고지방식의 에너지 함유량 (4.728 kcal/g)은 대조군에 공급된 저지방식의 에너지 함유량 (3.845 kcal/g)에 비해 높다 (Table 1). 이들 두 군에서의 에너지 섭취량을 계산하여 비교한 결과, 비만군의 에너지 섭취량은 16.5 kcal/일으로 대조군의 14.1 kcal/일에 비해 유의적으로 높았으며 (Fig. 1B), 이로 인해 고지방식을 공급한 군에서 비만이 유도되었음을 알 수 있었다. 또한, 본 연구에 사용된 고지방식과 저지방식의 경우 kcal 당 무기질과 비타민 함량이 동일하도록 제조되었으며, 두 식이 모두 1,000 kcal 당 아연 함량은 8.75 mg 이었다. 이를 kg 당

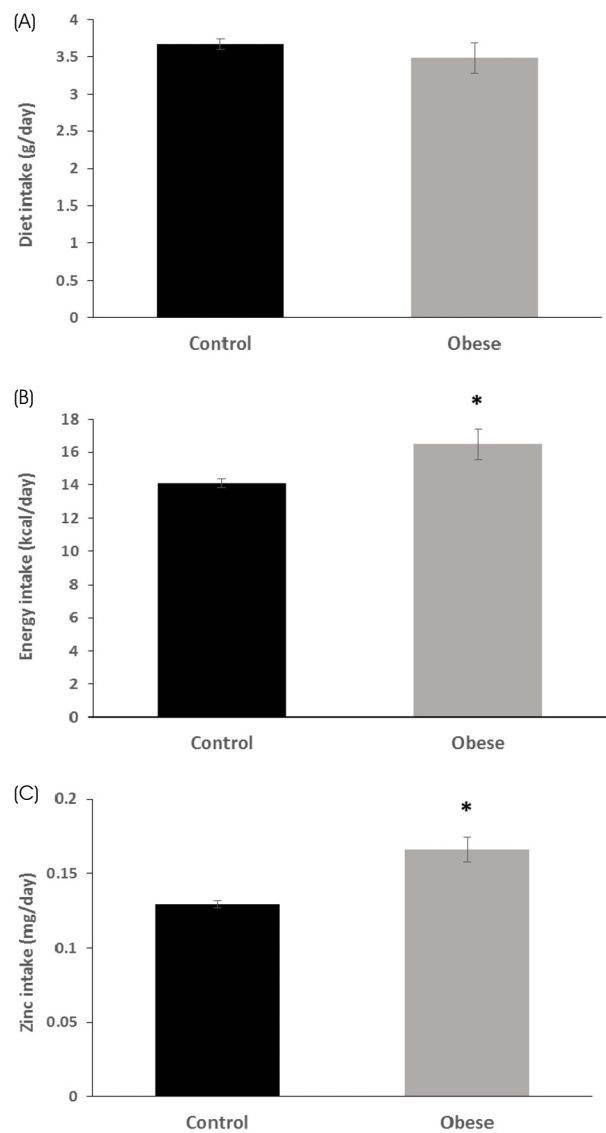


Fig. 1. The amount of total diet, energy, and zinc intakes in control and obese mice. Data are means ± SEM (n = 15/group). * indicates significant differences (p < 0.05) between two groups.

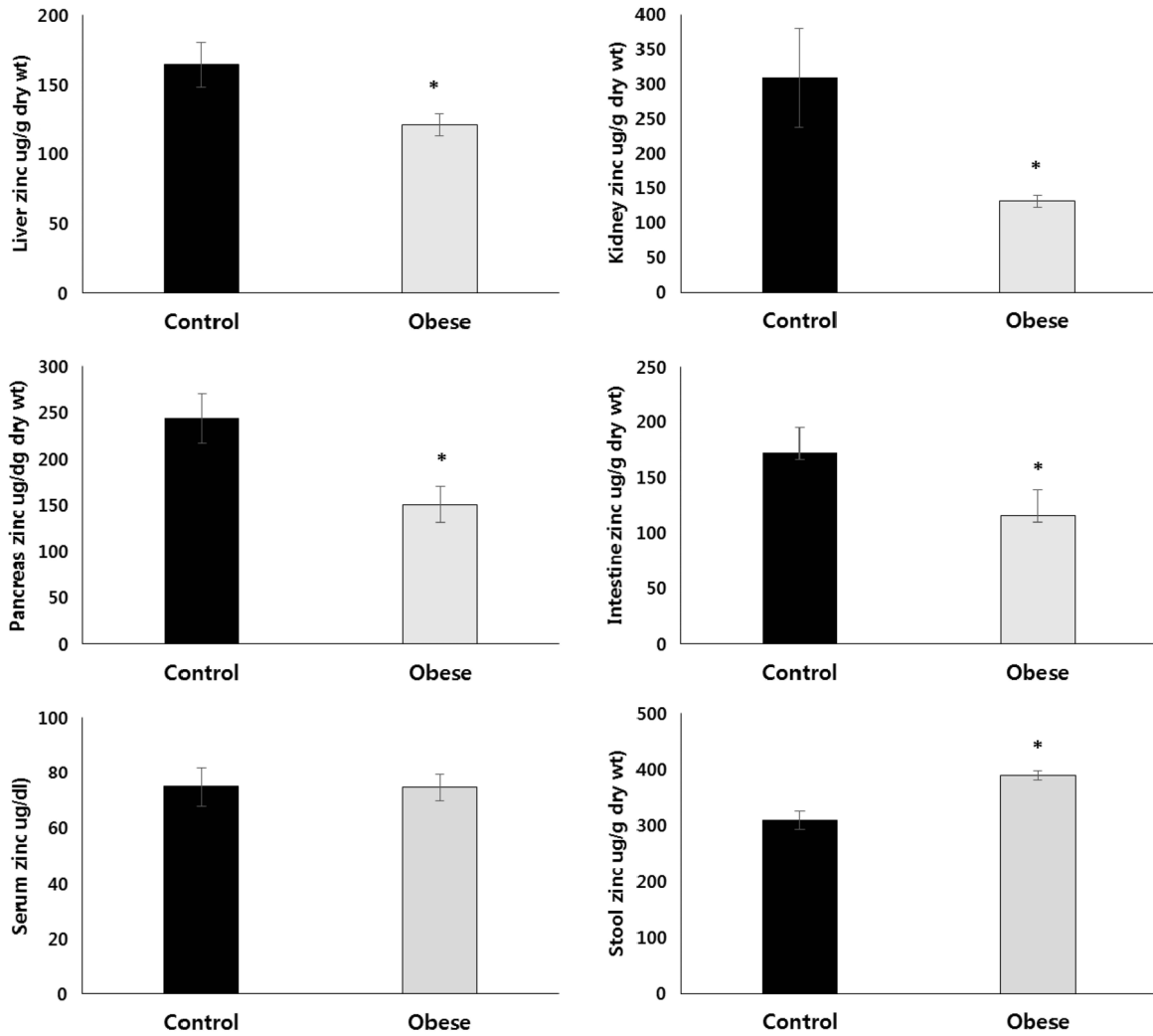


Fig. 2. Zinc concentrations in the serum and various tissues of control and obese mice. Data are means \pm SEM (n = 15/group). * indicates significant differences (p < 0.05) between two groups.

아연 함량으로 나타내면 고지방식이의 아연 함량은 45.87 mg/kg diet, 저지방식이의 아연 함량은 33.65 mg/kg diet가 된다. 각 군의 실제 사료 섭취량을 이용하여 아연 섭취량을 계산한 결과, 비만군의 아연 섭취량은 대조군의 아연 섭취량에 비해 유의적으로 높았다 (Fig. 1C).

비만군과 대조군의 각 조직 및 혈청 아연 농도 비교

비만 상태에서 체내 아연 영양상태의 변화 여부를 알아보기 위해 혈청과 대변 및 다양한 조직에서의 아연 농도를 비교한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 대조군에 비해 비만군에서 간, 신장, 소장 및 췌장에서 아연 농도가 유의적으로 감소하였으며, 조직에 따라 감소 정도에는 차이가 있었으나 비만군에서의 아연 농도는 대조군의 40~70% 수준에 불과하였다. 이에 반해, 혈청 아연 농도는 두 군 간에

유의적인 차이가 나타나지 않았다. 한편 대변에서의 아연 함량은 대조군에 비해 비만군에서 유의적으로 높았다.

비만군과 대조군의 아연수송체 mRNA 수준 비교

비만 상태에서 체내 아연 대사의 변화를 알아보기 위해, 아연의 흡수, 배설, 저장에 관여하는 조직인 소장, 췌장, 간에서 작용하는 대표적인 아연수송체에 대한 mRNA 수준을 비교하였다 (Fig. 3). 세포 내에서 밖으로 아연을 방출하는 ZnT1의 경우, 간과 췌장에서 모두 대조군에 비해 비만군에서 ZnT1 mRNA 수준이 유의적으로 증가하였다. 특히 췌장 조직의 경우 ZnT1 mRNA 수준이 비만군에서 대조군에 비해 약 2.6배 증가하였다. 소장 ZnT1 mRNA 수준도 비만군에서 정상군에 비해 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 수준에는 미치지 못했다. 한편, 세포 밖에서

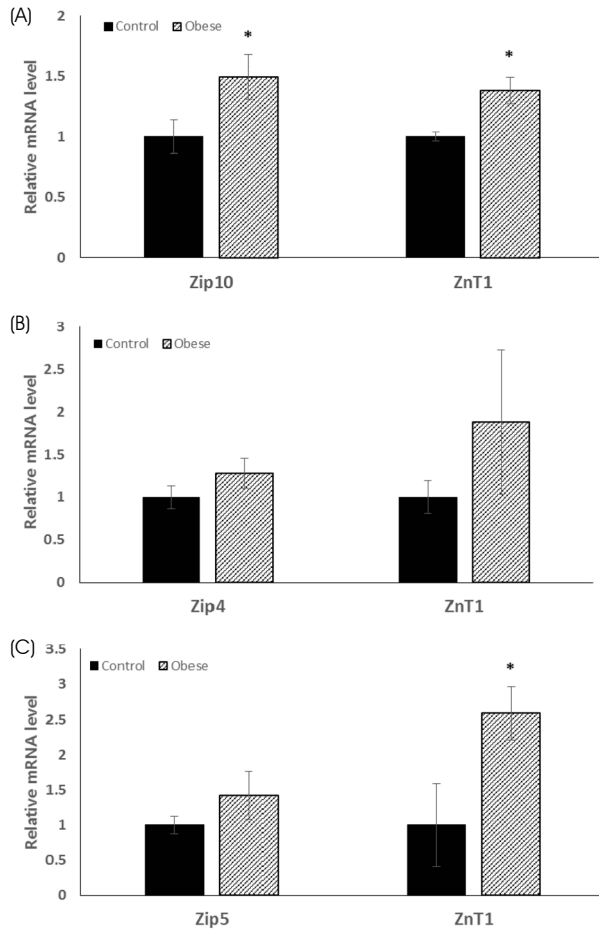


Fig. 3. Comparisons of zinc transporter mRNA levels in the (A) liver, (B) duodenum, and (C) pancreas of control and obese mice. Data are means \pm SEM ($n = 15/\text{group}$). * indicates significant differences ($p < 0.05$) between two groups.

세포 내로의 아연 수송에 주로 관여하는 Zip family의 경우, 간 조직에서는 Zip10 mRNA가 비만군에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 췌장에서 주로 발현되는 Zip5와 소장의 Zip4에 대한 mRNA 수준은 두 군 간 유의적인 차이가 없었다 (Fig. 3).

고 찰

현대사회에서 비만은 전세계적으로 유병률이 증가하고 있는 중요한 보건문제이다. 비만은 당뇨, 심혈관계질환, 일부 암 등 여러 만성질환을 유발한다. 뿐만 아니라 일부 무기질 대사에도 영향을 미치며 특히 비만과 아연의 혈중 농도 저하와의 연관성이 일부 임상 연구에서 보고된 바 있으나¹³⁻¹⁵ 관련 기전에 대한 이해는 아직 부족하다. 본 연구에서는 고지방식이로 유도한 비만 마우스에서 조직의 아연 농도의 변화와 이들 조직에서 주로 발현되는 아연수송

체에 대한 mRNA 수준을 비교하여 비만 상태가 체내 아연 대사에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

본 연구에서 비만군의 간, 소장, 소장 및 췌장 조직에서의 아연 농도는 정상군에 비해 모두 유의적으로 낮게 나타났다 (Fig. 2). 이는 유전적으로 만성적인 비만이 유도되는 ob/ob 마우스에서 정상 체중의 C57BL/6J 마우스에 비해 간, 소장, 대퇴골, 근육 등의 다양한 조직에서 아연 농도가 감소함을 보고한 선행 연구의 결과와 유사하다.¹⁸ 또한, 사료와 함께 32% 수크로오스 용액을 추가로 공급하여 비만을 유도한 모델에서도 대조군에 비해 비만군에서 혈청 아연 농도가 유의적으로 감소하였다.¹⁹ 하지만 이들 선행 연구들의 경우 식이로부터의 아연 섭취량을 측정하지 않았거나 비만군의 식이 아연 섭취량이 대조군에 비해 적었으므로, 비만에 의한 조직의 아연 농도 감소가 단순히 식이 아연 섭취량 차이 때문일 가능성을 배제할 수 없는 제한점을 가진다. 본 연구에서 비만을 유도하기 위해 사용한 고지방식이와 정상군의 저지방식이의 에너지 함량 당 아연 함량은 동일하였으며, 비만군의 하루 평균 아연 섭취량은 대조군의 아연 섭취량에 비해 유의적으로 높았다 (Fig. 1). 따라서 본 연구에서 나타난 비만군에서의 조직 아연 농도 감소는 아연 섭취량 감소에 의한 것이 아님을 제시한다.

고지방식이를 공급한 비만군은 저지방식이를 공급한 대조군에 비해 체중 증가량과 지방조직 증가량이 유의적으로 크게 나타났으며, 이러한 변화는 혈중 렙틴의 분비량 증가를 동반하였다 (Table 3). 렙틴은 주로 지방조직에 의해 생성되고 분비되는 아디포카인으로 식품 섭취와 에너지 소비를 조절할 뿐 아니라 면역과 염증 반응을 조절하는 데에도 중요한 역할을 한다.²⁰⁻²¹ 특히, 렙틴 분비의 증가는 혈액 lymphocyte들로부터 IL-6, IL-10, TNF-alpha 등의 염증성 사이토카인 분비를 촉진한다.²²⁻²⁴ 본 연구에서도 비만군에서 대조군에 비해 혈중 IL-6의 농도가 유의적으로 상승한 것으로 나타나 비만군에서의 염증 증가를 제시한다. 한편, 염증 상태는 아연 대사의 이상 (dysfunction)과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 예를 들어, 급격한 염증 증가가 동반되는 패혈증 환자의 경우, 염증이 동반되지 않는 중환자 대조군 또는 건강한 정상 대조군 모두에 비해 혈청 아연 농도가 유의적으로 감소되는 것으로 나타났다.²⁵ 또한, 염증성 장질환 (inflammatory bowel disease) 환자의 경우 정상군에 비해 혈청 아연 농도가 유의적으로 낮음이 보고되었다.²⁶ 특히 염증성 장질환 환자에게 아연 보충제를 공급 후에도 여전히 정상군에 비해 혈청 아연 수준이 낮게 나타나,²⁷ 염증 상태가 아연 대사의 불균형을 유발할 수 있음을 보여준다. 하지만 이들 기존의 임상 연구들에서는 혈청 아연 농도 지표만을 사용하였기

때문에 조직의 아연 저장량 등 체내 아연 영양상태의 실제 변화를 알 수 없는 제한점이 있다. 본 연구에서는 비만군에서 대부분의 조직에서 아연 농도가 유의적으로 감소함을 보여 비만으로 인한 염증 상태에서 체내 아연 전체 풀의 감소가 발생함을 알 수 있다.

한편, 간, 신장, 소장 및 췌장 등 조직의 아연 농도가 비만군에서 정상군에 비해 유의적으로 낮아진 것과 달리 혈청 아연 농도는 두 군간 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이는 혈청 아연 농도가 매우 좁은 범위 내에서 일정하게 유지되며 심한 아연 결핍에 의해서 변화하기 때문인 것으로 보인다.²⁸ 본 연구에서 혈청 ALP 효소의 활성의 경우 비만군에서 정상군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다 (Table 3). ALP는 아연-의존 금속 효소로서 아연 부족 시 활성이 감소하므로,²⁹⁻³⁰ 본 연구에서 비만 상태에서 아연의 조직 농도 감소는 실제 체내 아연의 기능적인 결핍을 유발하였음을 제시한다.

본 연구에서 두 군의 대변 아연 농도를 비교한 결과, 비만군에서 대조군에 비해 대변 아연 농도가 유의적으로 높게 나타났다 (Fig. 2). 이는 비만 상태에서 소장의 아연 흡수가 감소되었거나 체내에 존재하는 아연의 체외로의 배설이 증가되었을 가능성을 제시한다. 대변으로 배출되는 아연에는 흡수되지 않은 식이 아연 이외에 체내로부터 기인한 내인성 아연이 있는데, 내인성 아연의 대부분 (최대 80%)은 대변을 통해 배설되며 체내 아연 대사 변화에 따라 민감하게 배설량이 변화한다.^{31,32} 특히 안정동위원소 (stable isotope)를 이용한 Jackson 등³³의 연구에 따르면, 식이 아연 섭취량을 변화시켰을 때 소장에서의 흡수율 변화보다 내인성 아연의 대변으로의 배설 변화가 우선적으로 일어나는 것으로 보고되었으며, 이는 내인성 아연의 배설 조절이 아연 항상성 유지에 매우 중요한 역할을 함을 제시한다.

아연수송체는 종류에 따라 조직특이적으로 발현하며 체내 아연 대사를 조절에 관여한다. 또한, 아연수송체 발현 이상은 당뇨,³⁴ 피부질환,^{35,36} 천식,³⁷ 퇴행성 뇌 질환³⁸ 등 다양한 질병 상태와 연관되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 식이 아연의 흡수가 일어나는 소장과 내인성 아연의 배설에 관여하는 췌장에서의 아연수송체 발현 변화를 살펴보았다. 그 결과, 췌장에서 ZnT1 mRNA 수준이 비만군에서 대조군에 비해 2.6배 이상 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 췌장에서 분비되는 소화액에 들어있는 아연은 내인성 아연 배출의 주요 경로임을 고려해보면, 비만군에서의 췌장 ZnT1 mRNA 발현 수준의 증가는 비만 상태에서 아연 배설 증가에 기여할 것으로 사료되며, 앞서 관찰된 비만군에서 대변 아연 함량 증가와 밀접한 관련이

있을 것으로 보인다. 한편, 소장의 경우, 미세용모막에서 소장 내강의 아연을 소장 세포 내로 이동시키는 데 관여하는 Zip4 mRNA의 수준에는 두 군간 차이가 없었으며, 기저막에서 소장세포 내의 아연을 혈액으로 이동시키는 ZnT1 mRNA가 비만군에서 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 아니었다. 이로 볼 때 비만 상태에서 아연 대사의 변화는 소장 흡수율의 변화보다는 췌장에서의 아연 체외 분비에 더욱 영향을 미치는 것으로 보인다. 본 연구에서는 아연수송체의 변화를 mRNA 수준에서만 측정할 제한점이 있다. 아연 수송체에 대한 발현 조절은 주로 전사 단계에서 이루어지기는 하지만,⁸ 전사 후 조절을 배제할 수는 없으므로 단백질 수준에서의 변화 양상에 대한 확인이 추후 필요할 것으로 생각된다.

간 조직에서 ZnT1 mRNA 수준은 비만군에서 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 이는 췌장 조직에서의 ZnT1 mRNA 수준 변화와 유사하다. 비만 상태에서 아연 수송체 발현 수준이 변화하는 기작에 대해서는 잘 알려져 있지 않으나, IL-6 또는 IL-1 β 등의 염증성 사이토카인은 STAT 매개성 신호전달체계를 통해 일부 아연수송체 발현을 증가시키는 것으로 나타났다.³⁹⁻⁴¹ 본 연구에서도 대조군에 비해 비만군의 혈중 IL-6가 매우 높았으므로, 비만으로 인한 만성적인 염증 상태가 간을 비롯한 일부 조직의 ZnT1 mRNA 발현 증가와 관련이 있을 것으로 보인다. 한편, 최근 젊은 성인 여성을 대상으로 한 Maxel 등⁴²의 연구에서도, 피하지방 조직에서 ZnT1 mRNA 수준이 정상군에 비해 비만군에서 유의적으로 높은 것으로 나타나 본 연구의 결과를 뒷받침한다. 한편, 이들 연구에서 ZnT1 mRNA 수준은 인슐린 저항성 등의 대사 이상 지표와도 유의적인 양의 상관관계를 나타내 비만 상태의 아연 수송체 발현 변화가 각종 대사 이상과 밀접하게 관련됨을 보였다. 본 연구의 결과를 바탕으로, 추후 고지방식이 아연을 보충하였을 때 비만으로 인한 아연수송체 발현 변화 및 염증 증가 또는 각종 대사 이상의 변화를 완화하는 지에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 고지방식으로 유도한 비만군과 저지방식이를 공급한 대조군에서 각 조직의 아연 농도와 아연수송체 발현 수준을 비교하여, 비만 상태가 아연 대사에 미치는 영향을 파악하고자 하였다. C57BL/6J mice를 두 군으로 나누어 각 군당 15마리씩 고지방식이 (비만군) 또는 저지방식이 (대조군)를 총 15주간 공급하였다. 본 연구 결과, 비만군은 대조군에 비해 체중 증가량, 부위별 지방조직,

혈청과 간의 중성지방과 콜레스테롤 농도, 혈청 ALT 및 AST 활성 등이 모두 유의적으로 높게 나타났다. 또한 혈청 렙틴과 염증성 사이토카인인 IL-6의 농도도 비만군에서 유의적으로 증가하였다. 조직 별 아연 농도를 비교한 결과, 간, 소장, 신장, 췌장 등의 측정된 모든 조직에서 비만군이 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며, 대변으로 배설되는 아연 함량은 비만군이 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 혈청 아연 농도의 경우 두 군 간 유의적인 차이가 없었으나, 혈청 내 아연-의존 금속효소인 ALP 활성은 비만군에서 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타나 아연의 기능적인 결핍을 확인하였다. 내인성 아연의 체외 배출에 관여하는 췌장 조직에서의 ZnT1 mRNA 수준은 비만군에서 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 식이 아연 흡수에 관여하는 소장에서의 Zip4와 ZnT1의 mRNA 수준은 두 군간에 유의적인 차이가 없었다. 간 조직의 경우, ZnT1과 Zip10 mRNA이 모두 비만군에서 유의적으로 증가하였다. 이상의 결과를 요약하면, 비만 상태는 아연의 배설 증가와 조직 내 아연 농도 감소를 유발하는 것으로 나타났으며, 이들 아연 대사의 변화는 췌장과 간 조직의 아연 수송체 발현 수준 변화와 밀접한 관련이 있는 것으로 보인다. 비만인들에서 아연 영양상태가 결핍되지 않도록 관심을 가져야 할 것으로 생각되며, 비만으로 인한 아연 대사의 이상 (dysfunction)을 억제하기 위해서는 아연 수송체 발현을 조절할 수 있는 요인들에 대한 이해가 더욱 필요할 것으로 생각된다.

ORCID

민별초롱: <https://orcid.org/0000-0002-2551-3465>

정자용: <https://orcid.org/0000-0002-2035-6819>

References

- Institute of Medicine; Food and Nutrition Board; Panel on Micronutrients; Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Use of Dietary Reference Intakes; Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, D.C.: National Academies Press; 2001.
- Solomons NW. Mild human zinc deficiency produces an imbalance between cell-mediated and humoral immunity. *Nutr Rev* 1998; 56(1 Pt 1): 27-28.
- Prasad AS. Zinc: an overview. *Nutrition* 1995; 11(1 Suppl): 93-99.
- Heyneman CA. Zinc deficiency and taste disorders. *Ann Pharmacother* 1996; 30(2): 186-187.
- Wessels I, Maywald M, Rink L. Zinc as a gatekeeper of immune function. *Nutrients* 2017; 9(12): E1286.
- Hara T, Takeda TA, Takagishi T, Fukue K, Kambe T, Fukada T. Physiological roles of zinc transporters: molecular and genetic importance in zinc homeostasis. *J Physiol Sci* 2017; 67(2): 283-301.
- Hojyo S, Fukada T. Zinc transporters and signaling in physiology and pathogenesis. *Arch Biochem Biophys* 2016; 611: 43-50.
- Lichten LA, Cousins RJ. Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. *Annu Rev Nutr* 2009; 29(1): 153-176.
- Dufner-Beattie J, Wang F, Kuo YM, Gitschier J, Eide D, Andrews GK. The acrodermatitis enteropathica gene ZIP4 encodes a tissue-specific, zinc-regulated zinc transporter in mice. *J Biol Chem* 2003; 278(35): 33474-33481.
- Geiser J, De Lisle RC, Andrews GK. The zinc transporter Zip5 (Slc39a5) regulates intestinal zinc excretion and protects the pancreas against zinc toxicity. *PLoS One* 2013; 8(11): e82149.
- Kaler P, Prasad R. Molecular cloning and functional characterization of novel zinc transporter rZip10 (Slc39a10) involved in zinc uptake across rat renal brush-border membrane. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292(1): F217-F229.
- Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *J Biol Chem* 2006; 281(34): 24085-24089.
- Ennes Dourado Ferro F, de Sousa Lima VB, Mello Soares NR, Franciscato Cozzolino SM, do Nascimento Marreiro D. Biomarkers of metabolic syndrome and its relationship with the zinc nutritional status in obese women. *Nutr Hosp* 2011; 26(3): 650-654.
- Konukoglu D, Turhan MS, Ercan M, Serin O. Relationship between plasma leptin and zinc levels and the effect of insulin and oxidative stress on leptin levels in obese diabetic patients. *J Nutr Biochem* 2004; 15(12): 757-760.
- Marreiro DN, Fisberg M, Cozzolino SM. Zinc nutritional status and its relationships with hyperinsulinemia in obese children and adolescents. *Biol Trace Elem Res* 2004; 100(2): 137-149.
- Voruganti VS, Cai G, Klohe DM, Jordan KC, Lane MA, Freeland-Graves JH. Short-term weight loss in overweight/obese low-income women improves plasma zinc and metabolic syndrome risk factors. *J Trace Elem Med Biol* 2010; 24(4): 271-276.
- Ishikawa Y, Kudo H, Kagawa Y, Sakamoto S. Increased plasma levels of zinc in obese adult females on a weight-loss program based on a hypocaloric balanced diet. *In Vivo* 2005; 19(6): 1035-1037.
- Kennedy ML, Failla ML, Smith JC Jr. Influence of genetic obesity on tissue concentrations of zinc, copper, manganese and iron in mice. *J Nutr* 1986; 116(8): 1432-1441.
- Chen MD, Lin PY. Zinc-induced hyperleptinemia relates to the amelioration of sucrose-induced obesity with zinc repletion. *Obes Res* 2000; 8(7): 525-529.
- Francisco V, Pino J, Campos-Cabaleiro V, Ruiz-Fernández C, Mera A, Gonzalez-Gay MA, Gómez R, Gualillo O. Obesity, fat mass and immune system: role for leptin. *Front Physiol*

- 2018; 9: 640.
21. La Cava A. Leptin in inflammation and autoimmunity. *Cytokine* 2017; 98: 51-58.
 22. Sánchez-Margalet V, Martín-Romero C, Santos-Alvarez J, Goberna R, Najib S, Gonzalez-Yanes C. Role of leptin as an immunomodulator of blood mononuclear cells: mechanisms of action. *Clin Exp Immunol* 2003; 133(1): 11-19.
 23. Agrawal S, Gollapudi S, Su H, Gupta S. Leptin activates human B cells to secrete TNF- α , IL-6, and IL-10 via JAK2/STAT3 and p38MAPK/ERK1/2 signaling pathway. *J Clin Immunol* 2011; 31(3): 472-478.
 24. Zarrati M, Salehi E, Razmpoosh E, Shoormasti RS, Hosseinzadeh-Attar MJ, Shidfar F. Relationship between leptin concentration and body fat with peripheral blood mononuclear cells cytokines among obese and overweight adults. *Ir J Med Sci* 2017; 186(1): 133-142.
 25. Besecker BY, Exline MC, Hollyfield J, Phillips G, Disilvestro RA, Wewers MD, Knoell DL. A comparison of zinc metabolism, inflammation, and disease severity in critically ill infected and noninfected adults early after intensive care unit admission. *Am J Clin Nutr* 2011; 93(6): 1356-1364.
 26. Alkhouri RH, Hashmi H, Baker RD, Gelfond D, Baker SS. Vitamin and mineral status in patients with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56(1): 89-92.
 27. Griffin IJ, Kim SC, Hicks PD, Liang LK, Abrams SA. Zinc metabolism in adolescents with Crohn's disease. *Pediatr Res* 2004; 56(2): 235-239.
 28. Hennigar SR, Kelley AM, McClung JP. Metallothionein and zinc transporter expression in circulating human blood cells as biomarkers of zinc status: a systematic review. *Adv Nutr* 2016; 7(4): 735-746.
 29. Ray CS, Singh B, Jena I, Behera S, Ray S. Low alkaline phosphatase in adult population an indicator of zinc and magnesium deficiency. *Curr Res Nutr Food Sci* 2017; 5(3): 347-352.
 30. Cho YE, Lomeda RA, Ryu SH, Sohn HY, Shin HI, Beattie JH, Kwun IS. Zinc deficiency negatively affects alkaline phosphatase and the concentration of Ca, Mg and P in rats. *Nutr Res Pract* 2007; 1(2): 113-119.
 31. Krebs NF. Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J Nutr* 2000; 130(5S Suppl): 1374S-1377S.
 32. King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in humans. *J Nutr* 2000; 130(5S Suppl): 1360S-1366S.
 33. Jackson MJ, Jones DA, Edwards RH, Swainbank IG, Coleman ML. Zinc homeostasis in man: studies using a new stable isotope-dilution technique. *Br J Nutr* 1984; 51(2): 199-208.
 34. Tamaki M, Fujitani Y, Hara A, Uchida T, Tamura Y, Takeno K, Kawaguchi M, Watanabe T, Ogihara T, Fukunaka A, Shimizu T, Mita T, Kanazawa A, Imaizumi MO, Abe T, Kiyonari H, Hojyo S, Fukada T, Kawauchi T, Nagamatsu S, Hirano T, Kawamori R, Watada H. The diabetes-susceptible gene SLC30A8/ZnT8 regulates hepatic insulin clearance. *J Clin Invest* 2013; 123(10): 4513-4524.
 35. Schmitt S, Kürty S, Giraud M, Dréno B, Kharfi M, Béziau S. An update on mutations of the SLC39A4 gene in acrodermatitis enteropathica. *Hum Mutat* 2009; 30(6): 926-933.
 36. Lazarczyk M, Pons C, Mendoza JA, Cassonnet P, Jacob Y, Favre M. Regulation of cellular zinc balance as a potential mechanism of EVER-mediated protection against pathogenesis by cutaneous oncogenic human papillomaviruses. *J Exp Med* 2008; 205(1): 35-42.
 37. Lang C, Murgia C, Leong M, Tan LW, Perozzi G, Knight D, Ruffin R, Zalewski P. Anti-inflammatory effects of zinc and alterations in zinc transporter mRNA in mouse models of allergic inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 292(2): L577-L584.
 38. Chi ZH, Wang X, Wang ZY, Gao HL, Dahlstrom A, Huang L. Zinc transporter 7 is located in the cis-Golgi apparatus of mouse choroid epithelial cells. *Neuroreport* 2006; 17(17): 1807-1811.
 39. Wong CP, Magnusson KR, Ho E. Increased inflammatory response in aged mice is associated with age-related zinc deficiency and zinc transporter dysregulation. *J Nutr Biochem* 2013; 24(1): 353-359.
 40. Gálvez-Peralta M, Wang Z, Bao S, Knoell DL, Nebert DW. Tissue-Specific induction of mouse ZIP8 and ZIP14 divalent cation/bicarbonate symporters by, and cytokine response to, inflammatory signals. *Int J Toxicol* 2014; 33(3): 246-258.
 41. Miyai T, Hojyo S, Ikawa T, Kawamura M, Irié T, Ogura H, Hijikata A, Bin BH, Yasuda T, Kitamura H, Nakayama M, Ohara O, Yoshida H, Koseki H, Mishima K, Fukada T. Zinc transporter SLC39A10/ZIP10 facilitates antiapoptotic signaling during early B-cell development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(32): 11780-11785.
 42. Maxel T, Svendsen PF, Smidt K, Lauridsen JK, Brock B, Pedersen SB, Rungby J, Larsen A. Expression patterns and correlations with metabolic markers of zinc transporters ZIP14 and ZNT1 in obesity and polycystic ovary syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017; 8: 38.